

中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this
office of the application as originally filed which is identified hereunder：

申 請 日：西元 2003 年 02 月 18 日
Application Date

申 請 案 號：092103351
Application No.

申 請 人：杏輝藥品工業股份有限公司
Applicant(s)

局 長
Director General

蔡 練 生

發文日期：西元 2003 年 6 月 18 日
Issue Date

發文字號：09220601180
Serial No.

發明專利說明書

(填寫本書件時請先行詳閱申請書後之申請須知，作※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：_____ ※IPC 分類：_____

※ 申請日期：_____

壹、發明名稱

(中文) 來源於管花肉蓯蓉的含有苯乙醇苷的製劑及其製備方法和用途

(英文) _____

貳、發明人(共 3 人)

發明人 1 (如發明人超過一人，請填說明書發明人續頁)

姓名：(中文) 屠鵬飛

(英文) _____

住居所地址：(中文) 中國北京市北京大學醫學部

(英文) _____

國籍：(中文) 中國 (英文) CHINA

參、申請人(共 1 人)

申請人 1 (如發明人超過一人，請填說明書申請人續頁)

姓名或名稱：(中文) 杏輝藥品工業股份有限公司

(英文) _____

住居所或營業所地址：(中文) 宜蘭縣冬山鄉中山村 84 號

(英文) _____

國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

代表人：(中文) 李志文

(英文) _____

☒ 續發明人或申請人續頁 (發明人或申請人欄位不敷使用時，請註記並使用續頁)

發明人 2

姓名：(中文) 宋志宏
(英文)

住居所地址：(中文) 中國北京市北京大學醫學部
(英文)

國籍：(中文) 中國 (英文) CHINA

發明人 3

姓名：(中文) 雷麗
(英文)

住居所地址：(中文) 中國北京市北京大學醫學部
(英文)

國籍：(中文) 中國 (英文) CHINA

發明人 4

姓名：(中文)
(英文)

住居所地址：(中文)
(英文)

國籍：(中文) (英文)

發明人 5

姓名：(中文)
(英文)

住居所地址：(中文)
(英文)

國籍：(中文) (英文)

發明人 6

姓名：(中文)
(英文)

住居所地址：(中文)
(英文)

國籍：(中文) (英文)

肆、中文發明摘要

一種從管花肉蓯蓉獲得的含有苯乙醇苷的製劑，包含 10-70% 松果菊苷(echinacoside)及 1-40%類葉升麻苷(acteoside)，以該製劑的重量為基準。本發明的製劑可作為活性成分在製備預防和治療老年癡呆症藥物中的應用，及作為活性成分在製備抑制血小板聚集藥物中的應用。

伍、英文發明摘要

陸、(一)、本案指定代表圖爲：第_____圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

柒、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

捌、聲明事項

☐ 本案係符合專利法第二十二條第一項第一款但書或第二款但書規定之期間，其日期為：_____

☐ 本案已向下列國家（地區）申請專利，申請日期及案號資料如下：

【格式請依：申請國家（地區）；申請日期；申請案號 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 主張專利法第二十四條第一項優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；日期；案號 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____

☐ 主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

【格式請依：申請日；申請案號 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明

發明所屬之技術領域：

本發明涉及一種來源於肉蓯蓉屬植物的含有苯乙醇苷的製劑及其製備方法，和在抗老年癡呆、抑制血小板聚集的應用。

先前技術：

隨著世界人口老齡化的日益嚴重，與衰老有關的許多疾病如老年癡呆症等已成為當今社會嚴重威脅老年人身體健康的因素，由於致病機理複雜，目前尚未找到針對該病的具有顯著療效的藥物。基於肉蓯蓉長期以來作為傳統補腎、壯陽、強精藥用於臨床，因此成為被深入研究的物件。中藥肉蓯蓉 *Herba Cistanche* 為列當科肉蓯蓉屬多年生寄生草本植物，主產於中國西北各省，藥用其肉質莖，具有補腎陽、益精血、潤腸通便之功效，主治男子陽痿、女子不孕、血枯便秘等症，有“沙漠人參”之美譽。其中管花肉蓯蓉為肉蓯蓉屬中產量最大的一種。

從八十年代初，日本學者開始系統研究肉蓯蓉屬植物的化學成分和藥理活性，發現苯乙醇苷類化合物是肉蓯蓉屬植物的主要活性成分，具有抗氧化、促進物質代謝、改善學習記憶、增強性功能等作用，並對多種單體苯乙醇苷類化合物進行了深入研究（Sato T, et al. *Yakugaku Zasshi*, 1985, 105(12): 1131），有關這方面的研究還有大量文獻報道（Jimenez C, et al. *Nat Prod Rep*, 1994, 11(6): 591;

Cometa F, et al. Fitoterapia, 1993, 64(3): 195.)。

發明內容：

本案發明人在對肉蓯蓉屬進行十多年研究的基礎上，發現在該屬植物中管花肉蓯蓉的苯乙醇苷類化合物含量最高，並提出了一種從管花肉蓯蓉提取苯乙醇苷類化合物的新穎工藝，製備出含有苯乙醇苷的製劑，經過大量藥理試驗，發現該製劑具有明顯的增強記憶力、抑制血栓、抑制血小板聚集形成等作用。

本發明的目的之一是提供一種來源於管花肉蓯蓉的含有苯乙醇苷的製劑；本發明的目的之二是提供從管花肉蓯蓉獲得一含有苯乙醇苷的製劑的製備工藝；本發明的目的之三是提供抗老年癡呆的醫藥組合物。本發明的另一目的是提供抑制血小板聚集的醫藥組合物。

為達成上述本發明目的，依照本發明內容完成的一種從管花肉蓯蓉獲得的含有苯乙醇苷的製劑，包含 10-70%松果菊苷(echinacoside)及 1-40%類葉升麻苷(acteoside)，以該製劑的重量為基準。

優選的，本發明的製劑包含 25-70%松果菊苷(echinacoside)及 5-40%類葉升麻苷(acteoside)，以該製劑的重量為基準。

優選的，本發明的製劑從管花肉蓯蓉的肉質莖製備。

優選的，本發明的製劑進一步包含 2'-乙醯基類葉升麻苷(2'-acetylacteoside)、campneoside I、campneoside II、

管花肉蓯蓉苷 A(cistantubuloside A)、B₁、B₂、C₁、C₂、
crenatoside、去咖啡鹽基類葉升麻苷
(decaffeoyleoside)、異類葉升麻苷 (isoacteoside)、紅
景天苷(rhodioloside)、syringalide A
3'- α -L-rhamnopyranoside 和管花苷 A (tubuloside A)，它們
於該製劑的含量均低於 5%，以該製劑的重量為基準。

本發明提供一種從管花肉蓯蓉製備一含有苯乙醇苷的
製劑的方法，包含下列步驟：

- a) 將管花肉蓯蓉的地下部分以一第一極性溶劑加予
萃取；
- b) 將步驟 a) 獲得的萃取物加到裝有疏水大孔隙聚合
物的柱中，使得苯乙醇苷吸附在聚合物上；
- c) 用第二極性溶劑作為流動相洗液洗脫該柱以除
去游離的化合物，而實質上大部份的苯乙醇苷仍然吸附在
聚合物上；以及
- d) 用第三極性溶劑將苯乙醇苷從聚合物上洗脫下
來，得到含有苯乙醇苷的洗脫液，該第三極性溶劑與第二
極性溶劑相比極性較低。

優選的，本發明的製備方法的步驟 a) 的管花肉蓯蓉的
地下部分為其肉質莖。

優選的，本發明製備方法的步驟 a) 的萃取包含將管花
肉蓯蓉的地下部分與第一極性溶劑的混合物煮沸 0.5-10 小
時，以過濾方式分離該混合物而得到一液體部份作為該萃
取物，或減壓濃縮該萃取物而獲得一浸膏(extract)作為該萃

取物。優選的，該管花肉蓯蓉的地下部分與第一極性溶劑的混合物中的管花肉蓯蓉的地下部分與第一極性溶劑的重量比例為1：4～20。

優選的，本發明的製備方法的步驟a)的第一極性溶劑為水，或水與乙醇的混合溶劑。

優選的，本發明的製備方法的步驟b)的該聚合物由交聯聚芳族物質組成。更優選的，該聚合物由交聯的聚苯乙烯，或交聯的苯乙烯和二乙烯苯共聚物所組成。

優選的，本發明的製備方法的步驟c)的第二極性溶劑為水，步驟d)的第三極性溶劑包含甲醇，乙醇，水與甲醇的混合溶劑，或水與乙醇的混合溶劑，更優選的第三極性溶劑為水與乙醇的混合溶劑。

優選的，本發明的製備方法還包含除去含有苯乙醇苷的洗脫液中的溶劑以得到乾燥產物。

本發明還提供一種用於抗老年癡呆症的醫藥組合物，包含一抗老年癡呆症治療有效量作為有效成分的本發明的含有苯乙醇苷的製劑；及與該有效成分共同使用之醫藥容許載體或稀釋劑。

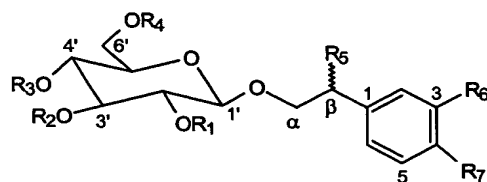
本發明還提供一種用於抑制血小板聚集的醫藥組合物，包含一抑制血小板聚集有效量作為有效成分的本發明的含有苯乙醇苷的製劑；及與該有效成分共同使用之醫藥容許載體或稀釋劑。

本發明還提供本發明的含有苯乙醇苷的製劑作為活性成分在製備預防和治療老年癡呆症藥物中的應用。

本發明還提供本發明的含有苯乙醇苷的製劑作為活性成分在製備抑制血小板聚集藥物中的應用。

實施方式：

本發明從管花肉蓯蓉製備的一種含有苯乙醇苷的製劑其中主要成分松果菊苷(echinacoside)和類葉升麻苷(acteoside)分別含 10~70% 和 1~40%，以該製劑的重量為基準。本發明所述的來源於管花肉蓯蓉的苯乙醇苷類化合物的結構通式為：



包括松果菊苷、類葉升麻苷、2'-乙醯基類葉升麻苷(2'-acetylacteoside)、campneoside I、campneoside II、管花肉蓯蓉苷 A(cistantubuloside A)、B₁、B₂、C₁、C₂、crenatoside、去咖啡醯基類葉升麻苷(decaffeoyleacteoside)、異類葉升麻苷(isoacteoside)、紅景天苷(rhodioloside)、syringalide A 3'-α-L-rhamnopyranoside 和管花苷 A(tubuloside A)等成分(表 1)，其中除松果菊苷及類葉升麻苷外均以少量或微量存在於本發明的製劑中。表 1 中各成分係經高效液相色譜指紋圖譜確定，該高效液相色譜指紋圖譜是在以下條件下獲得的：固定相為十八烷基矽烷鍵合矽膠；流動相為乙腈

— 0.05M 磷酸水溶液 (4:96→15:85) 梯度洗脫，流速 1 ml/min，檢測波長 330nm。

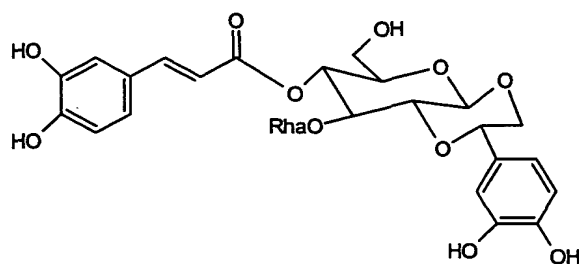
表 1 含有苯乙醇苷的製劑所含主要成分

Compound Name	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
2'-Acetylacteoside	Ac	Rha	Cf	H	H	OH	OH
Acteoside	H	Rha	Cf	H	H	OH	OH
Campneoside I	H	Rha	Cf	H	OMe(S/R)	OH	OH
Campneoside II	H	Rha	Cf	H	OH(S/R)	OH	OH
*Cistantubuloside A	H	Rha	Cf	Glc	H	H	OH
*Cistantubulosides B ₁ /B ₂	H	Rha	Cm/c-Cm	Glc	H	OH	OH
*Cistantubulosides C ₁ /C ₂	H	Rha	Cf	Glc	OH(S/R)	OH	OH
Decaffeoylacteoside	H	Rha	H	H	H	OH	OH
Echinacoside	H	Rha	Cf	Glc	H	OH	OH
Isoacteoside	H	Rha	H	Cf	H	OH	OH
Rhodioloside (Salidroside)	H	H	H	H	H	H	OH
Syringalide A							
3'- α -L-rhamnopyranoside	H	Rha	Cf	H	H	H	OH
Tubuloside A	Ac	Rha	Cf	Glc	H	OH	OH
Crenatoside	結構見下式						

*新化合物

Ac: Acetyl Cf: trans-Caffeoyl Cm: trans-Coumaroyl

c-Cm: cis-Coumaroyl Glc: β -D-Glucopyranose Rha: α -L-Rhamnopyranose



Crenatoside

本發明是通過如下方案實現的：(1) 溶劑提取法：以管花肉蓯蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk.) Wight 藥材，切成飲片或粉碎成粉末，選用一定量的水或乙醇或甲醇或其他低級脂肪醇中的一種溶媒或者混合溶媒浸泡，在室溫下滲漉提取，或用超聲波震蕩提取，或在加熱狀態下浸潤提取或回流提取，濾液備用。藥渣再加適量溶液煎煮或回流提取數次，濾過。合併濾液，減壓濃縮，即得提取浸膏。(2) 純化方法：將提取浸膏以水加熱溶解，注入如 D-101 型、AB-8 型或其他類型的大孔吸附樹脂柱內，先用水洗脫，棄去；再用水、甲醇、乙醇、含水甲醇或含水乙醇的一種或多種進行洗脫，洗脫時可以等濃度洗脫，也可以梯度洗脫，收集洗脫液，濃縮，利用常用乾燥方法乾燥，即得管花肉蓯蓉製備含苯乙醇苷的製劑，並將該製劑作為抗老年癡呆症、抑制血小板聚集的有效成分，使之與藥學上可接受的載體或其他適宜賦形劑相結合，按照常規方法製成膠囊劑、顆粒劑、散劑、片劑、糖漿劑、酏劑等劑型，用於預防和治療老年癡呆症，及抑制血小板聚集。

本發明的藥理試驗方案為：利用水迷宮實驗，通過與

空白組和對照組比較，判斷給藥組小鼠學習記憶增加的統計學意義。結果發現本發明含有苯乙醇苷的製劑可以明顯提高正常小鼠的學習記憶；對乙醇誘導小鼠記憶再現缺失有明顯的保護作用；對東莨菪鹼引起的小鼠記憶獲得障礙有明顯的改善記憶作用；對亞硝酸鈉引起的小鼠記憶鞏固障礙有明顯的保護作用；能明顯改善氫化可的松所致腎陽虛小鼠的學習記憶功能，並顯著降低氫化可的松引起的小鼠死亡率；改善局竈性腦缺血一再灌注癱瘓大鼠學習記憶障礙，此外，還能明顯抑制大鼠動一靜脈旁路血栓形成和血小板聚集作用。在上述藥理活性試驗的基礎上，臨床可被用於抗衰老、預防和治療老年癱瘓症〔包括血管性癱瘓(VD)和阿爾海默氏綜合症(AD)〕。

下面結合實施例對本發明做進一步詳細的描述，但不以此限制本發明。

提取方法：

實施例 1.

管花肉蓯蓉藥材 10kg，切成飲片，加 8 倍量水浸泡 1 小時後煎煮提取 2 小時，濾過，濾液備用。藥渣再加 6 倍量水煎煮提取 2 次，每次 1 小時，濾過。合併三次濾液，減壓濃縮至比重 1.10 (50℃)，加乙醇至含醇量達 60%，冷藏 12 小時，傾出上清液，將殘留的懸濁液過濾，合併上清液和濾液，回收乙醇並減壓濃縮至比重 1.10 (50℃)，得提

取浸膏 5.6kg。

實施例 2.

管花肉蓯蓉藥材 10kg，粉碎成粉末，加 15 倍量水浸泡 2 小時後煎煮提取 3 小時，濾過，濾液備用。藥渣再加 12 倍量水，煎煮提取 4 次，每次 2 小時，濾過。合併濾液，減壓濃縮至比重 1.25(50℃)，加乙醇至含醇量達 80%，冷藏 24 小時，傾出上清液，將殘留的懸濁液過濾，合併上清液和濾液，回收乙醇並減壓濃縮至比重 1.25 (50℃)，得提取浸膏 7.2kg。

實施例 3.

管花肉蓯蓉藥材 10kg，切成飲片，加 7 倍量水浸泡 3 小時後煎煮提取 4 小時，濾過，濾液備用。藥渣再加 5 倍量水，煎煮提取 4 次，每次 4 小時，濾過。合併濾液，減壓濃縮至比重 1.05 (50℃)，加 100% 乙醇至含醇量達 50%，冷藏 10 小時，傾出上清液，將殘留的懸濁液過濾，合併上清液和濾液，回收乙醇並減壓濃縮至比重 1.10 (50℃)，得提取浸膏 6.5kg。

實施例 4.

管花肉蓯蓉藥材 10kg，粉碎成粉末，加 4 倍量 40% 乙醇浸泡 3 小時後回流提取 4 小時，濾過，濾液備用。藥渣再加 4 倍量 40% 乙醇，回流提取 4 次，每次 4 小時，濾過。

合併濾液，減壓濃縮至比重 1.05 (50℃)，得提取浸膏 6.2kg。

純化方法：

實施例 5.

將提取浸膏 6kg 加 0.5 倍量水加熱溶解，徐徐注入已處理好的 D-101 型大孔吸附樹脂柱內，先用水洗脫，收集藥材 2 倍量水洗脫液備用；再用 20% 乙醇洗脫，收集藥材 2 倍量 20% 乙醇洗脫液備用。將水洗脫液再注入大孔吸附樹脂柱中，先用藥材 2 倍量水洗脫，棄去水洗脫液；再用 20% 乙醇洗脫，收集藥材 2 倍量 20% 乙醇洗脫液備用。合併 2 次 20% 乙醇洗脫液，濃縮，乾燥，即得含有苯乙醇苷的製劑 865g。

以高效液相色譜法測定松果菊苷及類葉升麻苷的含量的測定：

固定相為十八烷基矽烷鍵合矽膠；甲醇-0.15%醋酸 (30:70) 為流動相，流速 1 ml/分鐘，檢測波長 333 nm。

精密稱取 60℃ 減壓乾燥 24 小時的松果菊苷和類葉升麻苷對照品適量，加 50% 甲醇製成每 1 ml 含 0.1 mg 的溶液，作為對照品溶液。

供試品溶液的製備係取前述含有苯乙醇苷的製劑 50 mg，置於 25ml 量瓶中，加 50% 甲醇適量，超音波處理使溶解，加 50% 甲醇稀釋至刻度，搖勻，精密量取 1 ml，置於 10 ml 量瓶中，加 50% 甲醇稀釋至刻度，用 0.45 μ m 濾膜濾得過供試品溶液。

分別精密吸取對照品溶液及供試品溶液各 5 μ l，注入液相色譜儀，測定松果菊苷及類葉升麻苷的色譜峰的峰面積，採用峰面積計算即得。松果菊苷的含量經計算為 37.5 重量%，及類葉升麻苷的含量經計算為 6.7 重量%。

實施例 6.

將提取浸膏 6kg 加 5 倍量水加熱溶解，徐徐注入已處理好的 AB-8 型大孔吸附樹脂柱內，先用水洗脫，收集藥材 8 倍量水洗脫液備用；再用 60% 乙醇洗脫，收集藥材 8 倍量 60% 乙醇洗脫液備用。將水洗脫液再注入大孔吸附樹脂柱中，先用藥材 6 倍量水洗脫，棄去水洗脫液；再用 60% 乙醇洗脫，收集藥材 7 倍量 60% 乙醇洗脫液備用。合併 2 次 60% 乙醇洗脫液，濃縮，乾燥，即得含有苯乙醇苷的製劑 1203g。採用實施例 6 的方法測定該製劑的松果菊苷及類葉升麻苷的含量，它們分別為 48.6 重量%及 11.8 重量%。

實施例 7.

將提取浸膏 6kg 加 3 倍量水加熱溶解，徐徐注入已處理好的 AB-8 型大孔吸附樹脂柱內，先用水洗脫，收集藥材 8 倍量水洗脫液備用；再用 95% 乙醇洗脫，收集藥材 8 倍量 95% 乙醇洗脫液備用。將水洗脫液再注入大孔吸附樹脂柱中，先用藥材 6 倍量水洗脫，棄去水洗脫液；再用 95% 乙醇洗脫，收集藥材 8 倍量 95% 乙醇洗脫液備用。合併

2 次 95% 乙醇洗脫液，濃縮，乾燥，得含有苯乙醇苷的製劑 1260g。採用實施例 6 的方法測定該製劑的松果菊苷及類葉升麻苷的含量，它們分別為 41.3 重量%及 7.4 重量%。

實施例 8.

將提取浸膏 6kg 加 1 倍量水加熱溶解，徐徐注入已處理好的大孔吸附樹脂柱內，先用水洗脫，收集藥材 4 倍量水洗脫液備用；再用 40% 乙醇洗脫，收集藥材 5 倍量 40% 乙醇洗脫液備用。將水洗脫液再注入大孔吸附樹脂柱中，先用藥材 3 倍量水洗脫，棄去水洗脫液；再用 40% 乙醇洗脫，收集藥材 4 倍量 40% 乙醇洗脫液備用。合併 2 次 40% 乙醇洗脫液，濃縮，乾燥，即得含有苯乙醇苷的製劑 1107g。採用實施例 6 的方法測定該製劑的松果菊苷及類葉升麻苷的含量，它們分別為 31.7 重量%及 6.1 重量%。

藥理作用：

實施例 9.

含有苯乙醇苷的製劑對正常小鼠學習記憶的影響試驗
LACA 系小鼠，採用水迷宮實驗，以吡拉西坦片（腦複康）為陽性對照藥每周測定 6 天，共測 27 天。

結果：各給藥組與對照組小鼠逐日水迷宮測定反應時間 d 值結果總結於表 2。

表 2 含有苯乙醇苷的製劑經口給藥 27 天對小鼠學習記憶的影響

試驗	比較組別	d 值 (n=27)					
		≥0.5		≥0.8		≥0.5 合計	
		天	%	天	%	天	%
第一次	對照組—含有苯乙醇苷的製劑 50mg/kg 組	4	14.8	5	18.5	9	33.3
	對照組—含有苯乙醇苷的製劑 200mg/kg 組	10	37.0	3	11.1	13	48.2
第二次	對照組—含有苯乙醇苷的製劑 400mg/kg 組	0	0	27	100.0	27	100.0
	對照組—腦複康 400mg/kg 組	5	18.5	2	7.4	7	25.5
	腦複康組—含有苯乙醇苷的製劑 400mg/kg 組	7	25.9	16	59.3	23	85.2

從表 2 可見，經口服給予小鼠不同劑量含有苯乙醇苷的製劑，各劑量組與對照組的反應時間比較，總趨勢呈含有苯乙醇苷的製劑各劑量組的反應時間短於對照組的天數，隨含有苯乙醇苷的製劑劑量增加，反應時間呈興奮作用的天數（反應時間縮短）也增多。在 27 天測定中，根據 d 值分析有顯著性差異的天數，含有苯乙醇苷的製劑 50 mg/kg 組有 9 天，200 mg/kg 組有 13 天，400 mg/kg 組有 27 天。顯示隨含有苯乙醇苷的製劑劑量增加，呈反應時間興奮作用的天數明顯增加的劑量依賴關係。腦複康 400mg/kg 組與對照組比較呈興奮作用的天數為 7 天。與等

劑量含有苯乙醇苷的製劑比較明顯少於含有苯乙醇苷的製劑組，表明含有苯乙醇苷的製劑組對小鼠學習記憶的興奮作用明顯強於腦複康組。

實施例 10.

含有苯乙醇苷的製劑對乙醇誘導小鼠記憶再現缺失的保護作用

受試藥物與對照藥同實施例 7。LACA 系小鼠，採用水迷宮實驗方法。

各組經口分別給藥，於給藥後 1 小時，經口給予 30% 乙醇 0.1ml/10gBW。給乙醇後 30 分鐘，進行水迷宮測定。

各組小鼠經訓練後到達目標的游泳時間，給予乙醇 30 分鐘後到達目標游泳時間，以及錯誤出現次數、隻數試驗結果整理見表 3。

表 3 含有苯乙醇苷的製劑經口給藥 1 周對乙醇誘導 LACA

系雄鼠記憶再現缺失的保護作用

組別	劑量 mg/kg	動物 數 (隻)	訓練後到達目標		給酒精後到達目標			
			時間 (秒)	錯誤 次數/ 隻數	時間 (秒)	錯誤 次數/ 隻數	錯誤 率 次/隻	整組錯 誤率 次/隻
蓯蓉 製劑	50	12	7.46 ± 0.13	0/0	34.40 ± 21.71 [*]	47/8	5.88	3.92
	200	11	7.14 ± 0.18	0/0	16.99 ± 9.06 ^{##}	8/3 ^{△△}	2.67	0.73
	400	10	7.91 ± 0.19	0/0	24.38 ± 27.84	46/7	6.57	4.60
腦復康	400	10	8.00 ± 0.46	0/0	24.08 ± 32.52	54/6	9.00	5.40
對照		12	7.73 ± 0.75	0/0	37.78 ± 15.90	62/10	6.20	5.17

t 檢驗：與對照組比較 ## $P < 0.01$ ，與 200mg/kg 組比較

* $P < 0.05$

χ^2 檢驗：與對照組比較 △△ $P < 0.01$

從表 4 可見，含有苯乙醇苷的製劑各組及腦復康組給予乙醇後到達目標反應時間較對照組時間短，較未給乙醇明顯延長。但僅含有苯乙醇苷的製劑 200 mg/kg 組與對照組間差異有顯著性 ($P < 0.01$)，而且含有苯乙醇苷的製劑 50

mg/kg 組與 200 mg/kg 組間差異有顯著性($P<0.05$)，呈劑量效應關係。而含有苯乙醇苷的製劑 400 mg/kg 組和腦複康組與對照組間差異無顯著性。表明含有苯乙醇苷的製劑在 200 mg/kg 劑量經口給藥，對乙醇誘導記憶再現缺失有明顯保護作用。含有苯乙醇苷的製劑其他劑量組和腦複康組雖然到達目標時間反應短於對照組，但無統計學差異，保護作用不明顯。另外，從乙醇誘導後，水迷宮測定小鼠出現錯誤次數和出現錯誤的動物數，也顯示含有苯乙醇苷的製劑 200 mg/kg 組具有明顯保護乙醇誘導小鼠記憶再現缺失作用。其餘給藥組雖然錯誤次數或隻數略少於對照組，但保護作用不明顯，與對照組間差異無顯著性。

實施例 11

含有苯乙醇苷的製劑對東莨菪鹼引起的小鼠記憶獲得障礙的影響

(1) 藥品與動物

受試藥物和對照藥同實施例 9。採用小鼠跳臺訓練和測試方法，隨機分為正常對照組、模型組、吡拉西坦 600mg/kg 組和含有苯乙醇苷的製劑 400, 200, 100 mg/kg 組，每組 15 隻。以 0.2 ml/10g 體重的體積灌胃給藥，正常對照組和模型組灌胃等體積的蒸餾水，每日一次。在連續給藥至 29 天時進行訓練，訓練前 1h 給藥，訓練前 15 min 除正常對照組外各組腹腔注射東莨菪鹼 1 mg/kg。第 30 天進行測試，並於測試前 1h 給藥。結果見表 4。

從表 4 可見，給予東莨菪鹼後，和正常對照組比較小鼠跳臺試驗的測試潛伏期縮短，測試錯誤次數增多。與模型組比較，吡拉西坦 600 mg/kg，含有苯乙醇苷的製劑 400，200 mg/kg 能明顯延長測試潛伏期，減少測試錯誤次數，有明顯的改善記憶作用。含有苯乙醇苷的製劑 100 mg/kg 能明顯延長測試潛伏期，但測試錯誤次數與模型組比較無顯著差異。

表 4 含有苯乙醇苷的製劑對東莨菪鹼致小鼠記憶獲得障礙的影響 ($\bar{X} \pm SD$)

組別	劑量 (mg/kg)	動物數 (隻)	測試潛伏期 (S)	測試錯誤次數 (次/5min)
正常對照	1	4(1)	194.1±101.5*	1.36±1.45*
模型組		15	67.1±78.4	3.13±2.47
吡拉西坦	600	15	144.5±117.4*	1.60±1.40*
製劑	400	12(3)	206.1±98.8**	1.08±1.16**
	200	12(3)	183.2±115.2**	1.42±1.38*
	100	14(1)	191.8±117.5**	1.50±2.07

與模型組比較，*P<0.05，**P<0.01；括弧中數位為電擊死亡數。

實施例 12.

含有苯乙醇苷的製劑對大鼠動一靜脈旁路血栓形成的影響

雄性 SD 大鼠，以阿斯匹林腸溶片為對照，以下述方程計算，結果見表 5。

血栓抑制率（%）=

$$(\text{蒸餾水對照組血栓重} - \text{用藥組血栓重}) / \text{蒸餾水對照組血栓重} \times 100\%$$

與蒸餾水對照組比較，含有苯乙醇苷的製劑 200, 100mg/kg 灌胃給藥能抑制大鼠動靜脈旁路血栓形成，抑制率分別為 16.04% 和 19.60%，但均明顯弱於 100mg/kg 阿斯匹林的作用，其抑制率達 34.97%。含有苯乙醇苷的製劑 50mg/kg 對大鼠動靜脈旁路血栓形成無影響。

表 5 含有苯乙醇苷的製劑灌胃給藥對大鼠動-靜脈旁路血栓形成的影響

組別	劑量 (mg/kg)	動物數 (隻)	血栓濕重 (mg, $\bar{x} \pm \text{SD}$)	血栓抑制率 (%)
蒸餾水		10	44.9 ± 3.83	
阿斯匹林	100	10	29.2 ± 4.00**	34.97
製劑	200	10	37.7 ± 7.42*	16.04
	100	10	36.1 ± 5.16*	19.60
	50	10	42.6 ± 7.12	5.12

與蒸餾水對照組比較 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

實施例 13.

苯乙醇總苷對大鼠血小板聚集功能的影響

二磷酸腺苷二鈉(ADP)，中科院上海生化東風生化技術公司產品，批號為 9305122，用前配成 1 mg/ml 儲備液冰箱保存，用時以磷酸緩衝液稀釋 3 倍。

將雄性 SD 大鼠按體重隨機分為 5 組，分別為蒸餾水對照組、阿斯匹林 100 mg/kg、含有苯乙醇苷的製劑 200，100 和 50 mg/kg 組，灌胃給藥，給藥體積為 0.5 ml/100 g 體重，對照組給予等體積的蒸餾水，連續給藥 7 天，末次給藥前禁食 12 小時，第 7 天給藥後 1 小時從腹主動脈抽取血液，以 3.8%的枸橼酸鈉(1:9)抗凝，輕輕混勻後，以 1000 rpm 離心 3 分鐘，吸出上層富含血小板血漿(PRP)，餘血繼續在 300 rpm 離心 10min，上清為貧血小板血漿(PPP)比濁管中加入 200 μ l PRP，並以 PPP 調零點，預保溫 5 min 後加入 50 μ l 的 ADP 溶液誘導血小板聚集，測定血小板聚集強度(SPA-4 多功能血小板聚集儀，上海科達測試儀器廠生產)，計算血小板聚集抑制率。

$$\text{聚集抑制率(\%)} = \frac{\text{對照組最大聚集強度} - \text{藥物組最大聚集強度}}{\text{對照組最大聚集強度}} \times 100\%$$

和蒸餾水對照組比較，含有苯乙醇苷的製劑 200，100 和 50 mg/kg 灌胃給藥均能抑制 ADP 誘導的大鼠血小板聚集，以 200 mg/kg 組的抑制率最高，達到 59.48%，見表 6。

表 6 含有苯乙醇苷的製劑灌胃給藥對大鼠血小板聚集功能的影響

組別	劑量	動物數	血小板最大聚集(%)	血小板聚集抑制率
	(mg/kg)	(隻)	(*±SD)	(%)
蒸餾水		10	54.82±7.88	
阿斯匹林	100	11	32.73±11.14**	40.30
製劑	200	10	22.21±6.23**	59.48
	100	11	34.54±15.69*	36.99
	50	10	31.65±12.81**	42.26

與蒸餾水對照組比較 *p<0.01，**p<0.001。

申請專利範圍

1. 一種從管花肉蓯蓉獲得的含有苯乙醇苷的製劑，包含 10-70%松果菊苷(echinacoside)及 1-40%類葉升麻苷(acteoside)，以該製劑的重量為基準。

2. 如申請專利範圍第 1 項的製劑，其包含 25-70%松果菊苷(echinacoside)及 5-40%類葉升麻苷(acteoside)，以該製劑的重量為基準。

3. 如申請專利範圍第 1 項的製劑，其中該管花肉蓯蓉包含管花肉蓯蓉的肉質莖。

4. 如申請專利範圍第 1 項的製劑，其進一步包含 2'-乙醯基類葉升麻苷(2'-acetylacteoside)、campneoside I、campneoside II、管花肉蓯蓉苷 A(cistantubuloside A)、B₁、B₂、C₁、C₂、crenatoside、去咖啡醯基類葉升麻苷(decaffeoyleacteoside)、異類葉升麻苷(isoacteoside)、紅景天苷(rhodioloside)、syringalide A、3'- α -L-rhamnopyranoside 和管花苷 A(tubuloside A)，它們於該製劑的含量均低於 5%，以該製劑的重量為基準。

5. 一種從管花肉蓯蓉製備一含有苯乙醇苷的製劑的方法，包含下列步驟：

a) 將管花肉蓯蓉的地下部分以一第一極性溶劑加予

萃取；

b) 將步驟 a)獲得的萃取物加到裝有疏水大孔隙聚合物的柱中，使得苯乙醇苷吸附在聚合物上；

c) 用第二極性溶劑作為流動相流洗液洗脫該柱以除去游離的化合物，而實質上大部份的苯乙醇苷仍然吸附在聚合物上；以及

d) 用第三極性溶劑將苯乙醇苷從聚合物上洗脫下來，得到含有苯乙醇苷的洗脫液，該第三極性溶劑與第二極性溶劑相比極性較低。

6.如申請專利範圍第 5 項的製備方法，其中的步驟 a) 的管花肉蓯蓉的地下部分為其肉質莖。

7.如申請專利範圍第 5 項的製備方法，其中的步驟 a) 的萃取包含將管花肉蓯蓉的地下部分與第一極性溶劑的混合物煮沸 0.5-10 小時，以過濾方式分離該混合物而得到一液體部份作為萃取物，或減壓濃縮該萃取物而獲得一浸膏 (extract) 作為萃取物。

8.如申請專利範圍第 7 項的製備方法，其中步驟 a) 的第一極性溶劑為水，或水與乙醇的混合溶劑。

9.如申請專利範圍第 5 項的製備方法，其中步驟 b) 的聚合物由交聯聚芳族物質組成。

10.如申請專利範圍第9項的製備方法，其中該聚合物由交聯的聚苯乙烯，或交聯的苯乙烯和二乙烯苯共聚物所組成。

11.如申請專利範圍第5項的製備方法，其中的步驟c)的第二極性溶劑為水，步驟d)的第三極性溶劑包含甲醇，乙醇，水與甲醇的混合溶劑，或水與乙醇的混合溶劑。

12.如申請專利範圍第11項的製備方法，其中該第三極性溶劑為水與乙醇的混合溶劑。

13.如申請專利範圍第5項的製備方法，其還包含除去步驟d)的含有苯乙醇苷的洗脫液中的溶劑以得到乾燥產物。

14.一種用於抗老年癡呆症的醫藥組合物，包含一抗老年癡呆症治療有效量作為有效成分的如申請專利範圍第1至4項中任一項的含有苯乙醇苷的製劑；及與該有效成分共同使用之醫藥容許載體或稀釋劑。

15.一種用於抑制血小板聚集的醫藥組合物，包含一抑制血小板聚集有效量作為有效成分的如申請專利範圍第1至4項中任一項的含有苯乙醇苷的製劑；及與該有效成分共同使用之醫藥容許載體或稀釋劑。